

10/507156

10 Rec'd PCT/PTC 07 SEP 2004
日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

PCT/JP03/02394

28.02.0.

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2002年 3月 4日

出願番号

Application Number:

特願2002-058086

[ST.10/C]:

[JP2002-058086]

出願人

Applicant(s):

学校法人日本大学

REC'D 25 APR 2003

WIPO

PCT

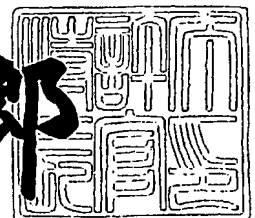
**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 4月 8日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3024264

【書類名】 特許願

【整理番号】 PANU013

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12N 15/00

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号日本大学内

 【氏名】 奥 忠武

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号日本大学内

 【氏名】 西尾 俊幸

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号日本大学内

 【氏名】 河内 隆

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号日本大学内

 【氏名】 駿河 康平

【特許出願人】

 【識別番号】 899000057

 【氏名又は名称】 学校法人 日本大学

【代理人】

 【識別番号】 100101591

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 川俣 静子

【選任した代理人】

 【識別番号】 100097191

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 實川 栄一郎

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 049342

【納付金額】

21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】

明細書 1

【物件名】

要約書 1

【プルーフの要否】

要

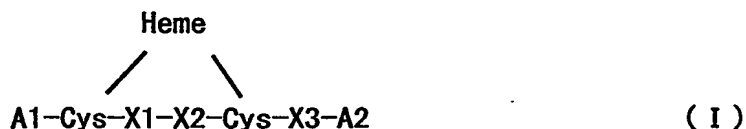
【書類名】 明細書

【発明の名称】 新規ヘムペプチド

【特許請求の範囲】

【請求項1】 次式 I で表されるヘムペプチド。

【化1】

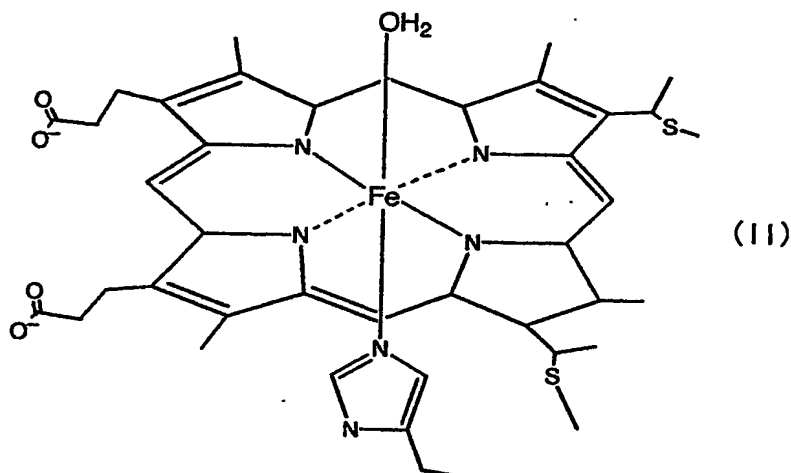


(式中、A1は水素原子または1～20個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖を表し、

A2は水酸基または1～50個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖を表し、

Hemeは次式：

【化2】



で表されるヘム核を表し、

X1, X2は各々独立に任意のアミノ酸残基を表し、

X3は、His LysまたはArgを表す。)

【請求項2】 上記式 I 中、X1及びX2が各々独立にAla、Gln、Lys、Arg及びValからなる群より選択されるアミノ酸残基を表す請求項1のヘムペプチド。

【請求項3】 上記式 I 中、X1がAlaであり、X2がGlnまたはAlaであり、X3がHisで

ある請求項 1 のヘムペプチド。

【請求項 4】 上記式 I 中、A1 が、水素原子またはアミノ酸配列 Val Gln Lys を有するペプチド鎖であり、

A2 がアミノ酸配列 Thr Val Glu Lys またはアミノ酸配列 Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leu を有するペプチド鎖であり、

X1 が Ala であり、X2 が Gln であり、X3 が His である請求項 1 のヘムペプチド

。 【請求項 5】 上記式 I 中、A1 がアミノ酸配列 Phe Ser Ala Asn を有するペプチド鎖であり、

A2 がアミノ酸配列 Ala Gly Gly Asn Asn Ala を有するペプチド鎖であり、

X1 が Ala であり、X2 が Ala であり、X3 が His である請求項 1 のヘムペプチド

。 【請求項 6】 シトクロム c を制限酵素で消化し、ゲル濾過クロマトグラフィーで精製することからなる請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載のヘムペプチドの製造方法。

【請求項 7】 前記制限酵素が、サーモライシン、トリプシン、キモトリプシン、Achromobacter プロテアーゼ I 及び Staphylococcus aureus V8 プロテアーゼからなる群から選択される請求項 6 のヘムペプチドの製造方法。

【請求項 8】 請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載のヘムペプチドを含む NO 捕捉剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、新規ヘムペプチド、特に NO 捕捉能を有するヘムペプチド、該ヘムペプチドの製造方法、並びに該ヘムペプチドを含む NO 捕捉剤及び医薬組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、糖尿病、動脈硬化、癌等の生活習慣病への一酸化窒素（NO）の関与が

報告されている。即ち、NOの生産異常が多くの生理機能や病気に関与していることが報告されている。例えば、NOの不足が、高血圧、高脂血症、動脈硬化、心不全、冠動脈攣縮等に関与しており、NOの過多が脳卒中、ハンチントン病、パーキンソン病等に関与していることが知られている。

また、NOは、環境汚染物質NO_xの一つでもあり、NOを捕捉する物質の開発は、環境汚染の測定において、また汚染された大気、水等の浄化においても重要である。

従って、NOの定量や捕捉物質の開発が望まれていた。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、NOは常温でガス体であり、不安定であるため、取扱いや定量が困難であり、有効なNO捕捉物質も知られていなかった。

本発明者らは、これまでにシトクロムcがNO捕捉能を有することを見出している（化学と生物34(12),784-785(1996)）。また、同様のC-typeシトクロムを紅藻スサビノリ、緑藻クロレラ、光合成細菌など各種生物から単離し、NO捕捉能を確認している（Biosci. Biotechnol. Biochem., 64(3), 628-632, 2000, Jap. J. Pharmacol., 75(Suppl.I), 113 P(1997)）。さらに、本発明者らは、紅藻スサビノリ *Porphyra yezoensis* 由来のシトクロムc₆のX線立体構造解析により三次構造を決定しており（Acta Cryst., D56, 1577-1582(2000)）、またシトクロムc₆の組換え大腸菌での発現系を構築している。

本発明者らは、NO捕捉能を有する物質についてさらに研究を進め、シトクロムcに比べてさらに高いNO捕捉能を有するヘムペプチドを見出した。

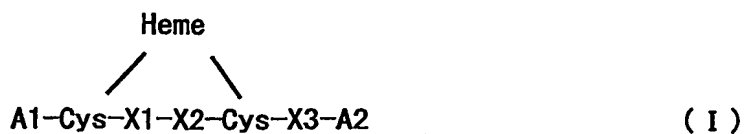
【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明は下記式Iで表されるヘムペプチドに関する。

【0005】

【化3】



【0006】

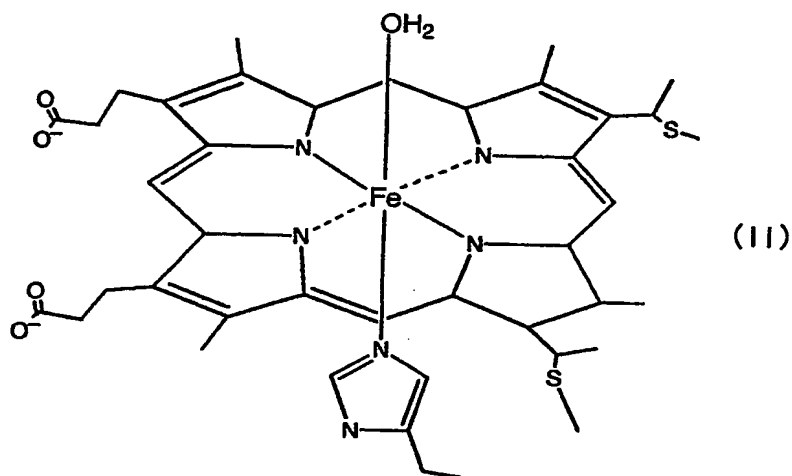
(式中、A1は水素原子または1～20個、好ましくは1～10個、特に1～5個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖を表し、

A2は水酸基または1～50個、好ましくは1～10個、特に1～5個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖を表し、

Hemeは次式：

【0007】

【化4】



【0008】

で表されるヘム核を表し、

X1, X2は各々独立に任意のアミノ酸残基を表し、

X3は、His LysまたはArgを表す。)

上記ヘム核は、3,8位のシステニルチオエーテル結合を介してシステイン残基に結合することができる。

(2) X1及びX2が各々独立にAla、Gln、Lys、Arg及びValからなる群より選択さ

れるアミノ酸残基を表す (1) のヘムペプチド。

(3) X1がAlaであり、X2がGlnまたはAlaであり、X3がHisである (1) のヘムペプチド。

(4) A1が、水素原子またはアミノ酸配列Val Gln Lysを有するペプチド鎖であり、

A2がアミノ酸配列Thr Val Glu Lysまたはアミノ酸配列Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leuを有するペプチド鎖であり、

X1がAlaであり、X2がGlnであり、X3がHisである (1) のヘムペプチド。

(5) A1がアミノ酸配列Phe Ser Ala Asnを有するペプチド鎖であり、

A2がアミノ酸配列Ala Gly Gly Asn Asn Alaを有するペプチド鎖であり、

X1がAlaであり、X2がAlaであり、X3がHisである (1) のヘムペプチド。

【0009】

また、本発明は、シトクロム c を制限酵素で消化し、所望により塩析処理を行った後、ゲル濾過クロマトグラフィーで精製することからなる (1) ~ (5) のヘムペプチドの製造方法に関する。制限酵素は、好ましくはサーモライシン、トリプシン、キモトリプシン、Achromobacter プロテアーゼ I 及び Staphylococcus aureus V8 プロテアーゼからなる群から選択される。

さらに、本発明は、(1) ~ (5) のヘムペプチドを含む NO 捕捉剤に関する。

本発明の上記ペプチドは、特に、シトクロム c の少なくとも 14 番目の Cys から 18 番目のアミノ酸までのアミノ酸配列、または該配列において 15 番目、16 番目及び 18 番目のアミノ酸残基が置換されたアミノ酸配列を有するペプチドを含み、ヘム核が 14 番目の Cys と 17 番目の Cys に 3,8 位のシステニルチオエーテル結合を介して結合しており、18 番目のアミノ酸残基が His、Lys または Arg であり、15 番目及び 16 番目のアミノ酸が好ましくは Ala, Gln, Lys, Arg または Val であり、14 番目の Cys の N 末端側のペプチド鎖と 17 番目の Cys の C 末端側のペプチド鎖が好ましくは 50 塩基以下、より好ましくは 10 塩基以下であることを特徴とするものである。このようなヘムペプチドがシトクロム c よりも高い NO 捕捉能を有することは、本発明者の鋭意研究により見出されたものであるが

、これは、おそらく分子が小さくなることにより単位面積あたりの溶媒分子数が増大することに加えて、ヘム核が溶媒面に露出してNOとの衝突確率が高まったためであると考えられる。

【0010】

【発明の実施の形態】

A1の具体例としては、例えば、配列表の配列番号1（ウマ心筋シトクロムcの配列）または配列番号2（紅藻スサビノリのシトクロムc₆の配列）のアミノ酸番号1～13のアミノ酸配列またはそれらの1～数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されたアミノ酸配列のうち、アミノ酸番号13からN末端側に連続する1～13個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖が挙げられる。

A2の具体例としては、例えば、配列表の配列番号1（ウマ心筋シトクロムcの配列）または配列番号2（紅藻スサビノリのシトクロムc₆の配列）のアミノ酸番号19～70のアミノ酸配列またはそれらにおいて1～数個のアミノ酸が置換、欠失または付加されたアミノ酸配列のうち、アミノ酸番号19のアミノ酸からC末端側に連続する1～50個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖が挙げられる。

【0011】

本明細書において「NO捕捉剤」は、NOの捕捉に用いられるものであれば、目的を問わない。典型的には、生体内、例えば血中のNO濃度の測定のための診断剤、生体内、例えば血中のNOの捕捉するNOの過多に関連する疾病の予防剤・治療剤、研究用試薬、大気中、排気ガス中、または水中のNO濃度の測定のための試薬、また水処理または排気ガス処理のための処理剤として使用されるものである。

【0012】

本発明のヘムペプチドは、シトクロムcのアミノ酸配列をコードする塩基配列を有するDNA、またはこれに部位特異的変異を導入したDNAを含むベクターを宿主細胞に導入し、該宿主細胞を培養し、培養物からシトクロムcを単離し、これを制限酵素で消化した後、クロマトグラフィー等の方法により精製することにより製造することもできる。この場合、形質転換に用いるベクターとしては、

バイオテクノロジーの分野で慣用のプラスミド、ファージ等を使用することができる。宿主細胞は、好ましくは原核生物の細胞、より好ましくは細菌、特に大腸菌である。シトクロム c の単離は、例えば培養細胞を採取し、物理的に破碎し、抽出し、精製することにより行うことができる。培養細胞の採取は、固体培地の場合は培養細胞をかきとることにより、また液体培地の場合には遠心分離により行うことができる。

なお、本発明において、「シトクロム c」は、シトクロム c₁、シトクロム c₂、シトクロム c₆、シトクロム c-551 等、全ての c 型シトクロムを含む。

また、本発明のペプチドを構成する「アミノ酸残基」には、修飾されたアミノ酸残基も含まれる。

【0013】

【実施例】

以下の実施例において、試薬は特記しない限り、和光純薬製のものを使用した。等電点は、Ampholine PAGplate ゲル (Pharmacia 社製、IEF 用、pH3.5-9.5) を用いた等電点電気泳動により解析した。吸収極大は、HITACHI U-3310 spectrophotometer (HITACHI 社製) を用いて測定した。酸化還元電位は、HITACHI U-3310 spectrophotometer (HITACHI 社製)、ORP 電極 (Metrohm 社製) を用いて測定した。

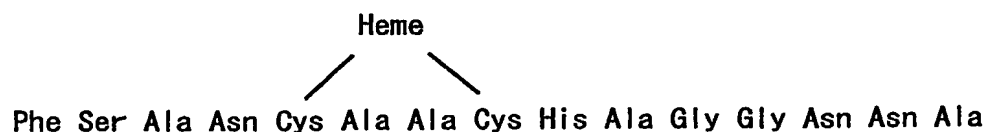
【0014】

実施例 1：ヘムペプチド (mp 15) の調製

下記のアミノ酸配列を有するヘムペプチドを調製した。

【0015】

【化 5】



【0016】

(配列番号 3 の配列を有するペプチドの 5 番目及び 8 番目のシステインに前記式

IIのヘム核が結合したもの)

紅藻スサビノリ (*Porphyra yezonesis*)より精製したシトクロム c_6 1 mg を 0.1 M トリス-塩酸緩衝液 pH 7.8 (2 mM 塩化カルシウムを含む) 200 μ l に溶解した。得られたシトクロム c_6 溶液を 37°C で 5 分間保温し、これに 0.1 M トリス塩酸緩衝液に溶解した 1 mg/ml サーモライシン溶液 62.5 μ l を添加し、さらに上記と同じ緩衝液 37.5 μ l を添加した。この反応溶液を、37°C で 4.5 時間保温した。この反応溶液を氷冷して反応を停止させた後、上記と同じ緩衝液 700 μ l を加えた。得られた反応溶液をゲル濾過カラムクロマトグラフィー (Toyopearl HW-40F, 1.0 x 80cm, 東ソー社製) で精製し、標記のペプチドを得た。得られたペプチドを電気泳動にかけ、単一物質であることを確認した。また、このペプチドのアミノ酸配列をアミノ酸シーケンサーで調べ、標記の配列を有するペプチドであることを確認した。

【0017】

また、得られたペプチドは、下記の物理学的性質を有していた：

等電点：4.15，酸化型の吸収極大：404, 526nm，還元型の吸収極大：413.5, 549.5nm，酸化還元電位-82.2mV，分子量：2200。

【0018】

実施例 2：ヘムペプチド (mp 9) の調製

下記のアミノ酸配列を有するペプチドを調製した。

【0019】

【化 6】



【0020】

(配列番号 4 の配列を有するペプチドの 1 番目及び 4 番目のシステインに前記式 II のヘム核が結合したもの)

ウマ心筋シトクロム c (和光純薬社製) 1 mg を 0.1 M トリス-塩酸緩衝液

(pH 8.0) 100 μ l に溶解した。得られたシトクロム c 溶液を 37℃ で 5 分間保温し、これに 0.1 M トリス塩酸緩衝液に溶解した 1 mg/ml トリプシン溶液 40 μ l を添加し、さらに上記と同じ緩衝液 60 μ l を添加した。この反応溶液は、37℃ で 24 時間保温した。この反応溶液を氷冷して反応を停止させた後、硫酸アンモニウム 78 mg を添加した後、沈殿物を濾取し、ゲル濾過カラムクロマトグラフィー (Toyopearl HW-40F, 1.0 x 80cm, 東ソー社製) で精製し、標記のペプチドを調製した。得られたペプチドを電気泳動にかけ、単一物質であることを確認した。また、このペプチドのアミノ酸配列をアミノ酸シーケンサーで調べ、標記の配列を有するペプチドであることを確認した。

また、得られたペプチドは、下記の物理学的性質を有していた：

等電点：4.95, 酸化型の吸収極大：395, 619nm, 還元型の吸収極大：412, 520, 549nm, 酸化還元電位-132mV, 分子量：1637。

【0021】

実施例 3：ヘムペプチド (mp 22) の調製

下記のアミノ酸配列を有するペプチドを調製した。

【0022】

【化 7】



【0023】

(配列番号 5 の配列を有するペプチドの 4 番目及び 7 番目のシステインに前記式 II のヘム核が結合したもの)

ウマ心筋シトクロム c (和光純薬社製) 1 mg を 0.1 M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0) 100 μ l に溶解した。得られたシトクロム c 溶液を 37℃ で 5 分間保温し、これに 0.1 M トリス塩酸緩衝液に溶解した 1 mg/ml キモトリプシン溶液 40 μ l を添加し、さらに上記と同じ緩衝液 60 μ l を添加した。この反応溶液は、37℃ で 24 時間保温した。この反応溶液を氷冷して反応を停止

させた後、硫酸アンモニウム 78 mg を添加した後、沈殿物を濾取し、ゲル濾過カラムクロマトグラフィー (Toyopearl HW-40F, 1.0 x 80cm, 東ソー社製) で精製し、標記のペプチドを調製した。得られたペプチドを HPLC にかけて、単一物質であることを確認した。また、このペプチドのアミノ酸配列をアミノ酸シーケンサーで調べ、標記の配列を有するペプチドであることを確認した。

また、得られたペプチドは、下記の物理学的性質を有していた：

等電点：6.02, 酸化型の吸収極大：398, 620nm, 還元型の吸収極大：416, 520, 549nm, 酸化還元電位-66.5mV, 分子量3065。

【0024】

実施例 4：ヘムペプチド (mp 65) の調製

下記のアミノ酸配列を有するペプチドを調製した。

【0025】

【化 8】

Heme

Gly Asp Val Glu Lys Gly Lys Lys Ile Phe Val Gln Lys Cys Ala Gln Cys
His Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leu His Gly
Leu Phe Gly Arg Lys Thr Gly Gln Ala Pro Gly Phe Thr Tyr Thr Asp Ala
Asn Lys Asn Lys Gly Ile Thr Trp Lys Glu Glu Thr Leu Met

【0026】

(配列番号 6 の配列を有するペプチドの 14 番目及び 17 番目のシステインに前記式 II のヘム核が結合したもの)

ウマ心筋シトクロム c (和光純薬社製) 1 mg を 10 mg/ml 臭化シアン (70% ギ酸に溶解したもの) 100 μ l に溶解し、反応チューブ内を窒素通気した。得られたシトクロム c 溶液を 20℃ で 24 時間保温した。この反応溶液を水冷して反応を停止させた後、超純水 400 μ l を加え、ゲル濾過カラムクロマトグラフィー (Toyopearl HW-40F, 1.0 x 80cm, 東ソー社製) で精製し、標記のペプチドを調製した。得られたペプチドを電気泳動にかけて、単一物質であることを確認した。また、このペプチドのアミノ酸配列をアミノ酸シーケンサーで調べ、

標記の配列を有するペプチドであることを確認した。

また、得られたペプチドは、下記の物理学的性質を有していた：

等電点：9.52，酸化型の吸収極大：404，535nm，還元型の吸収極大：415，520，549nm，酸化還元電位-62.1mV，分子量8900。

【0027】

実施例5：制限酵素として、キモトリプシンの代わりにAchromobacterプロテアーゼI（リシルエンドペプチダーゼ）を使用すること以外は、実施例3と同様の方法により、下記式で表されるNO捕捉ヘムペプチドを調製した。

【0028】

【化9】



【0029】

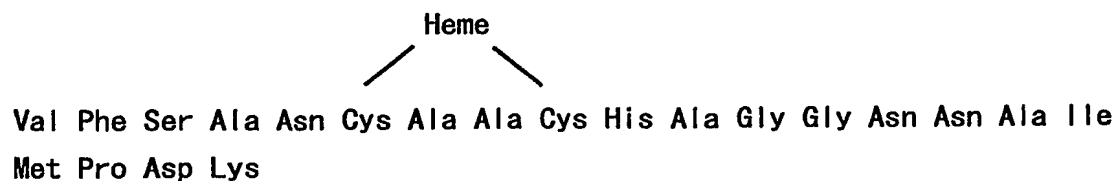
（配列番号7の配列を有するペプチドの1番目及び4番目のシステインに前記式IIのヘム核が結合したもの）

【0030】

実施例6：制限酵素として、サーモライシンの代わりにAchromobacterプロテアーゼI（リシルエンドペプチダーゼ）を使用すること以外は、実施例1と同様の方法により、下記式で表されるNO捕捉ヘムペプチドを調製した。

【0031】

【化10】



【0032】

（配列番号8の配列を有するペプチドの6番目及び9番目のシステインに前記式

IIのヘム核が結合したもの)

【0033】

実施例7：制限酵素として、キモトリプシンの代わりにStaphylococcus aureus V8プロテアーゼ（エンドプロテナーゼGlu-C）を使用し、リン酸緩衝液の代わりにアンモニウム系緩衝液を使用すること以外は、実施例3と同様の方法により、下記式で表されるNO捕捉ヘムペプチドを調製した。

【0034】

【化11】



【0035】

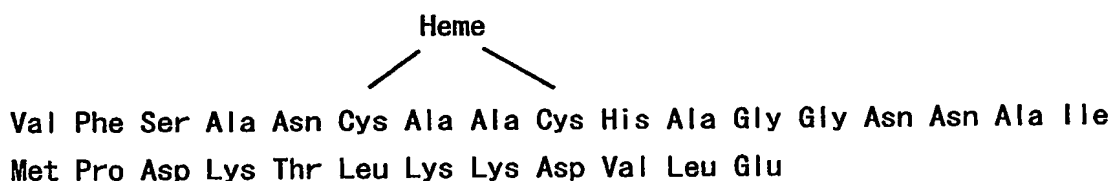
（配列番号9の配列を有するペプチドの10番目及び13番目のシステインに前記式IIのヘム核が結合したもの）

【0036】

実施例8：制限酵素として、サーモライシンの代わりにStaphylococcus aureus V8プロテアーゼ（エンドプロテナーゼGlu-C）を使用し、リン酸緩衝液の代わりにアンモニウム系緩衝液を使用すること以外は、実施例1と同様の方法により、下記式で表されるNO捕捉ヘムペプチドを調製した。

【0037】

【化12】



【0038】

（配列番号10の配列を有するペプチドの6番目及び9番目のシステインに前記式IIのヘム核が結合したもの）

【0039】

試験例1：NO捕捉能の測定

10 mlのバイアルに、100 mMリン酸緩衝液（pH 7.0）0.3 ml、10 mM亜硝酸ナトリウム0.4 ml、上記各ペプチド溶液0.5 ml、3 mMメチルピオロゲン（東京化成工業株式会社製）0.4 mlを入れ、ブチルゴム栓とアルミシールで密封した。このバイアルを、アルゴンを通気しながら37℃で5分間保温した後、100 mM亜ジチオン酸ナトリウム（50 mM炭酸水素ナトリウムに溶解したもの）0.3 mlを添加することにより、反応を開始した。一定の時間間隔で反応液を0.2 mlずつ分取し、ボルテックスミキサーで空気酸化させることにより反応を停止した。

残存亜硝酸量をジアゾ化法により測定した。反応液を0.02 mlとり、超純水を1.98 ml添加した後、1%スルファニルアミド1 ml、0.02%のN-1-ナフチルエチレンジアミン塩酸塩1 ml、超純水1 mlを添加し、室温で20分間放置した後、生成アゾ色素の540 nmにおける吸光度を測定し、既知濃度の亜硝酸溶液から作製した検量線より、残存亜硝酸量を算出した。

測定は、SHIMADZU UV-1600 UV-VISIBLE SPECTROPHOTOMETERを用いて行った。

反応速度論的解析は、2, 4, 6, 8, 10 mM亜硝酸ナトリウムに対する比活性を求め、その後Lineweaver-Burkプロットにより反応回転数 k_{cat} (s^{-1})を算出することにより行った。

各実施例で得られたペプチドの反応速度定数を下記の表に示す。

また、比較のためにウマ心筋シトクロムc及び紅藻スサビノリシトクロムc₆の反応速度定数を併記した。

【0040】

【表 1】

ペプチド	反応速度定数 $k_{cat} (s^{-1})$
実施例 1 mp 15	2.54
実施例 2 mp 9	1.66
実施例 3 mp 22	0.80
実施例 4 mp 65	0.12
比較例 1 ウマ心筋シトクロム c	15.21×10^{-3}
比較例 2 紅藻スサビノリシトクロム c _s	0.05

【0041】

表より、本発明のヘムペプチドが、シトクロム c と比較して、著しく高い NO 捕捉能を有することが明らかである。

【0042】

【発明の効果】

生体内での NO の定量のための試薬、生体内で NO を制御する医薬品組成物、環境中の NO 濃度を測定するための試薬、汚染大気や汚染排水の浄化剤として利用可能な NO 捕捉剤が提供される。さらに、本発明のヘムペプチドのうち、水溶性のものは、液体試料中での用途に適している。

【0043】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

- <110> NIHON UNIVERSITY
- <120> Novel Heme peptide
- <130> PANU013
- <160> 10
- <210> 1
- <211> 104
- <212> PRT
- <213> Horse

<400> 1

Gly Asp Val Glu Lys Gly Lys Lys Ile Phe Val Gln Lys Cys Ala Gln

1

5

10

15

Cys His Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leu

20

25

30

His Gly Leu Phe Gly Arg Lys Thr Gly Gln Ala Pro Gly Phe Thr Tyr

35

40

45

Thr Asp Ala Asn Lys Asn Lys Gly Ile Thr Trp Lys Glu Glu Thr Leu

50

55

60

Met Glu Tyr Leu Glu Asn Pro Lys Lys Tyr Ile Pro Gly Thr Lys Met

65

70

75

80

Ile Phe Ala Gly Ile Lys Lys Lys Thr Glu Arg Glu Asp Leu Ile Ala

85

90

95

Tyr Leu Lys Lys Ala Thr Asn Glu

100

<210> 2

<211> 85

<212> PRT

<213> *Porphyra yezoensis*

<400> 2

Ala Asp Leu Asp Asn Gly Glu Lys Val Phe Ser Ala Asn Cys Ala Ala

1

5

10

15

Cys His Ala Gly Gly Asn Asn Ala Ile Met Pro Asp Lys Thr Leu Lys

20

25

30

Lys Asp Val Leu Glu Ala Asn Ser Met Asn Thr Ile Asp Ala Ile Thr

35

40

45

Tyr Gln Val Gln Asn Gly Lys Asn Ala Met Pro Ala Phe Gly Gly Arg

50

55

60

Leu Val Asp Glu Asp Ile Glu Asp Ala Ala Asn Tyr Val Leu Ser Gln

65

70

75

80

Ser Glu Lys Gly Trp

85

<210> 3

<211> 15

<212> PRT

<213> Porphyra yezoensis

<400> 3

Phe Ser Ala Asn Cys Ala Ala Cys His Ala Gly Gly Asn Asn Ala

1 5 10 15

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Horse

<400> 4

Cys Ala Gln Cys His Thr Val Glu Lys

1 5

<210> 5

<211> 22

<212> PRT

<213> Horse

<400> 5

Val Gln Lys Cys Ala Gln Cys His Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His

1 5 10 15

Lys Thr Gly Pro Asn Leu

20

<210> 6

<211> 65

<212> PRT

<213> Horse

<400> 6

Gly Asp Val Glu Lys Gly Lys Lys Ile Phe Val Gln Lys Cys Ala Gln

1

5

10

15

Cys His Thr Val Glu Lys Gly Gly Lys His Lys Thr Gly Pro Asn Leu

20

25

30

His Gly Leu Phe Gly Arg Lys Thr Gly Gln Ala Pro Gly Phe Thr Tyr

35

40

45

Thr Asp Ala Asn Lys Asn Lys Gly Ile Thr Trp Lys Glu Glu Thr Leu

50

55

60

Met

65

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Horse

<400> 7

Cys Ala Gln Cys His Thr Val Glu Lys

1

5

<210> 8

<211> 21

<212> PRT

<213> Porphyra yezoensis

<400> 8

Val Phe Ser Ala Asn Cys Ala Ala Cys His Ala Gly Gly Asn Asn Ala

1

5

10

15

Ile Met Pro Asp Lys

20.

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> Horse

<400> 9

Lys Gly Lys Lys Ile Phe Val Gln Lys Cys Ala Gln Cys His Thr Val

1

5

10

15

Glu

<210> 10

<211> 29

<212> PRT

<213> Porphyra yezoensis

<400> 10

Val Phe Ser Ala Asn Cys Ala Ala Cys His Ala Gly Gly Asn Asn Ala

1

5

10

15

Ile Met Pro Asp Lys Thr Leu Lys Lys Asp Val Leu Glu

20

25

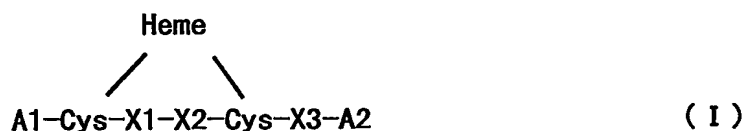
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 NOの捕捉・定量に使用可能で、NOが関与する疾病の診断剤、予防剤もしくは治療剤として、研究試薬として、環境中のNO濃度の測定に用いる試薬として、環境中のNOの除去に使用される処理剤として使用することのできる、NO捕捉力の強いペプチドを提供する。

【解決手段】 次式 I で表されるヘムペプチド。

【化 1】

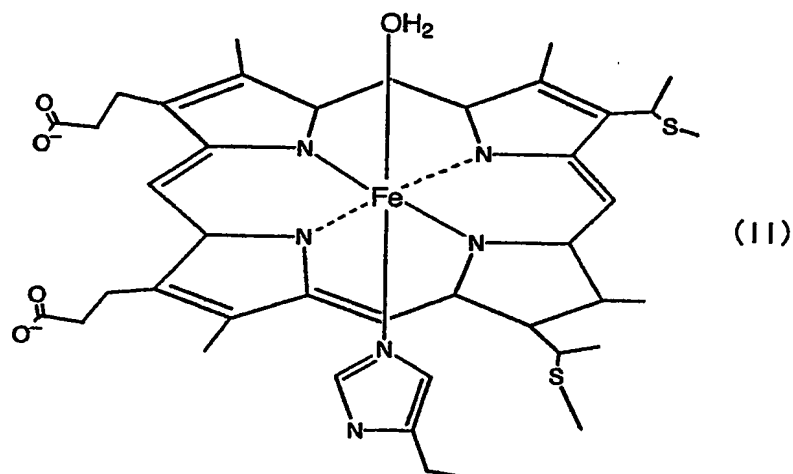


(式中、A1は水素原子または1～20個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖を表し、

A2は水酸基または1～50個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖を表し、

Hemeは次式：

【化 2】



で表されるヘム核を表し、

X1, X2は各々独立に任意のアミノ酸残基を表し、

X3は、His LysまたはArgを表す) 及びその製造方法。

特 2 0 0 2 - 0 5 8 0 8 6

【選択図】なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2002-058086
受付番号	50200299304
書類名	特許願
担当官	宇留間 久雄 7277
作成日	平成14年 3月18日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成14年 3月 4日

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [899000057]

1. 変更年月日 1999年 9月17日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都千代田区九段南四丁目8番24号

氏 名 学校法人日本大学